Versuche an Ratten zur Frage der Organtoxizität von W 37 (1-Butylbiguanid), Synthalin B (Dodekamethylendiguanidin) und IPTD (p-Aminobenzosulfonamidisopropylthiodiazol)

Franz Langer

1962

AUS DER II. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Bodechtel

Versuche an Ratten zur Frage der Organtoxizität von W 37 (1-Butylbiguanid), Synthalin B (Dodekamethylendiguanidin) und IPTD (p-Aminobenzolsulfonamidisopropylthiodiazol)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Franz Langer
aus Spornhau/Sudetenland

München 196[illegible]

[illegible]

AUS DER II. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Bodechtel

Versuche an Ratten zur Frage der Organtoxizität von W 37 (1-Butylbiguanid), Synthalin B (Dodekamethylendiguanidin) und IPTD (p-Aminobenzosulfonamidisopropylthiodiazol)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Franz Langer
aus Spornhau/Sudetenland

München 1962

A. Schubert, München 5, Corneliusstr. 21 · Tel. 22 17 77

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. M. M. FORELL
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Dr. E. WERLE
Dekan:	Prof. Dr. W. SEITZ

Tag der mündlichen Prüfung: 26. 6. 1962

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
A.	Einleitung	5
B.	Zur Entwicklung der nicht-Insulin-substituierenden Diabetestherapie - Wirkungsmechanismus der Substanzen	5
C.	Die exkretorischen Fermente des Pankreas	6
D.	Methodik	7
E.	Ergebnisse	9
F.	Erörterung der Befunde	18
G.	Schluss	25
H.	Literatur	27

Tag der mündlichen Prüfung: 26.10.1977

A. EINLEITUNG

Substanzen vom Typ der Biguanide, die z. Zt. in der oralen Diabetestherapie verwendet werden, führen mitunter zu gastro-intestinalen Nebenwirkungen. Im Tierexperiment wurden auch Schädigungen der Niere und Leber sowie Veränderungen der A-Zellen und des Nebennierenmarkes beobachtet. Um die Ursachen der gastrointestinalen Beschwerden zu klären, wurde an der Ratte die Wirkung von W 37 (1-Butylbiguanid) auf das Pankreas, insbesondere seine exkretorische Fermentbildung und auf die Mucosa des Duodenums untersucht. Der Einfluss dieser Substanz auf die Niere war Gegenstand weiterer Untersuchungen.

In der Literatur wird die Frage erörtert, ob die Entwicklung von den Guanidinen, die vordem therapeutisch verarbreicht wurden, zu den Biguaniden einen Fortschritt bedeute. Es erschien deshalb sinnvoll, dass Guanidinderivat Synthalin B in die Untersuchungen einzubeziehen und die jeweiligen Ergebnisse einander gegenüber zu stellen. Ausserdem wurde noch die Wirkung des Sulfonylharnstoffes IPTD auf das Rattenpankreas untersucht, da neben den Biguaniden die Sulfonylharnstoffe in der Diabetestherapie von grosser Bedeutung sind.

B. ZUR ENTWICKLUNG DER NICHT-INSULIN-SUBSTITUIERENDEN DIABETES-THERAPIE

Watanabe stellte 1918 fest, dass Guanidin den Blutzucker beim Tier zu senken vermag. Auf Grund dieser Beobachtungen führten Frank, Nothmann und Wagner 1926 Synthalin A in die Therapie ein. Kurze Zeit später wurde Synthalin B entwickelt und therapeutisch angewandt. Seit 1928 ist durch Untersuchungen von Staub u.a. bekannt, dass Synthalin in hohen Dosen bei verschiedenen Species zu Leberparenchymnekrosen führt. CREUTZFELDT u.a. beobachteten ausserdem Tubulusschäden der Niere nach Synthalin. Sichere, allein auf die Synthalintherapie zurückzuführende Schäden beim Menschen sind nicht beschrieben worden. Nach 1945 wurde Synthalin wohl wegen des engen Indikationsbereiches und der Häufigkeit der Nebenwirkungen nicht mehr hergestellt (CREUTZFELDT).

Bereits 1929 fanden Hesse und Taubmann sowie Slotta und Tschesche, dass auch Biguanide den Blutzucker senken. Jedoch erst 1957 erfolgte die klinische Anwendung eines von Ungar und Mitarb. entwickelten Biguanids.

Zum Wirkungsmechanismus der Biguanide finden sich in der Literatur folgende Beobachtungen bzw. Erklärungen:
Mono-substituierte Biguanide wirken am stärksten blutzuckersenkend (Osterloh).
Biguanide befördern die Glukose in das Zellinnere und haben einen Einfluss auf die Hexokinasereaktion (Weitzel).
Nach Biguaniden fällt im Blut α-Ketoglutarat ab. Pyruvat und Lactat steigen an.

Zwischen dem Anstieg des Blutlactats und der Verminderung der Lactacidurie bestehen enge Beziehungen (CREUTZFELDT).
Die Wirkung auf das Leberglykogen und auf die Gluconeogenese ist unterschiedlich. Es wurde jedoch bei Bestimmungen des Leberglykogens nicht immer der Blutzucker mituntersucht. Das wäre wichtig im Hinblick auf die Frage, ob die Biguanide direkt oder in bestimmten Fällen nur über eine starke Hypoglykämie Leberglykogen mobilisieren (MEHNERT).
Eine Wirkung der Biguanide auf den Fructosestoffwechsel wurde nicht gefunden (Plattner).
Biguanide hemmen die hyperglukämische Wirkung von Adrenalin und Glukagon (Nielsen und Mitarb.).

IPTD (p-Aminobenzosulfonamidisopropylthiodiazol) wurde 1941 von Kimmig und Vonkennel synthetisiert. Janbon und Mitarb. entdeckten 1942 die blutzuckersenkende Wirkung dieser Substanz und fanden beim Menschen eine Parallelität zwischen Wirkungsgrad und Blutspiegel. Loubatières hat diese Substanz experimentell untersucht und fand einen erhöhten Glukagongehalt der Leber. Am pankreaslosen Hund sah er keine hypoglykämische Wirkung. Von HOLT, KRÖNER und KÜHNAU stellten erhebliche Veränderungen der A-Zellen der Langerhans'schen Inseln nach IPTD fest. Z. Zt. werden in der oralen Diabetestherapie die Sulfonylharnstoffe BZ 55 (als Invenol und Nadisan im Handel) und D 860 (Handelsnamen Rastinon und Artosin) verwendet.
Auch der Wirkungsmechanismus der Sulfonylharnstoffe ist noch nicht völlig geklärt. Es steht lediglich fest, dass die Wirkung der SuH an das Vorhandensein von funktionierendem Pankreasgewebe gebunden ist. Die SuH üben auf die Glucoseresorption, auf die Glykolyse und auf endokrine Drüsen mit Ausnahme des Pankreas keine Wirkung aus.

C. DIE EXKRETORISCHEN FERMENTE DES PANKREAS

Im Pankreas werden die Verdauungsfermente Diastase, Lipase, Trypsin, Chymotrypsin und Carboxypeptidase sowie das kreislaufaktive Kallikrein gebildet. Die Verdauungsfermente bedürfen keiner besonderen Erörterung. Die vielfältige Bedeutung und Wirkung des Kallikreins sollen im folgenden dargelegt werden.

Kallikrein wurde von E.K.FREY zuerst im Harn (19), später von FREY, KRAUT und WERLE im Blut und in der Bauchspeicheldrüse gefunden (20, 28). Im Panreas (41) und in der Globulinfraktion des Serums (20, 39) liegt es in seiner inaktiven Vorstufe, dem Kallikreinogen, vor; im Harn wird es als aktives Kallikrein ausgeschieden. Kallikrein senkt den Blutdruck, erweitert die peripheren Gefässe und beschleunigt die Herztätigkeit.

Nach WERLE hat Kallikrein ausserdem noch eine proteolytische Wirkung; es

setzt katalysatorisch aus Kallidinogen ebenfalls kreislaufaktives Kallidin frei (40, 43, 45).

Nach neueren Untersuchungen (24) führt Kallikrein (als Depot-Padutin verabreicht) bei Patienten mit Arteriosklerose und mit pathologisch erhöhten Serumlipoidwerten zu einer ausgeprägten Senkung der Cholesterinfraktionen und der Phospholipoide. Bei alimentärer Fettbelastung werden die sonst beobachteten Veränderungen der geprüften Lipoidfraktionen weitgehend aufgehoben.

Ausserdem führt Depot-Padutin bei pathologisch gesteigerter Kreislaufdynamik zu einem Abfall von systolischem Blutdruck, Blutdruckamplitude, Schlagvolumen und Herzminutenvolumen (27). Inaktiviertes Kallikrein bewirkt einen Abfall des systolischen Blutdruckes und des peripheren Widerstandes (27). Der mögliche Zusammenhang zwischen Fettstoffwechselwirkung und Kreislaufbeeinflussung wird diskutiert (24, 27).

WERLE und KORSTEN (21) fanden, dass die Harnkallikreinausscheidung bei verschiedenen Nierenkrankheiten herabgesetzt ist. DOBOVICNIK (10) stellte eine verminderte Kallikreinausscheidung beim Alloxandiabetes der Ratte fest. Nach Zusatz von Trypsin zum Urin der Ratte waren jedoch die Kallikreinwerte normal; es war also nicht das ganze, die Nieren passierende Kallikreinogen aktiviert worden. BARGMANN und CREUTZFELDT hatten nach Alloxan Veränderungen an den Hauptstücken der Nierentubuli beschrieben. Da also beim Alloxandiabetes der Ratte die Kallikreinogenaktivierung vermindert und gleichzeitig die Nierentubuli geschädigt sind, nahm DOBOVICNIK an, dass die Nierentubuli das Kallikreinogen aktivieren. Eine verminderte Kallikreinogenaktivierung ist demnach ein Zeichen einer Schädigung der Nierentubuli (42). Diese Erkenntnisse wurden in der vorliegenden Arbeit bei den Urinuntersuchungen nach W 37 und Synthalin verwertet.

D. METHODIK

Die Versuche wurden an Ratten vom Stamm Spraque-Dawley mit einem Gewicht von 175 g bis 250 g durchgeführt.

W 37 (1-Butylbiguanid)[+)] wurde subkutan und peroral verabfolgt. Die subkutane Injektion erfolgte bei

Gruppe W I in Dosen von 75 mg/kg drei Tage lang,
Gruppe W II in Dosen von 50 mg/kg über zwei Wochen.

Peronal wurde W 37 durch Schlundsonde appliziert in

Gruppe W III in Dosen von 200 mg/kg an drei aufeinanderfolgenden Tagen,
Gruppe W IV in Dosen von 140 mg/kg zehn Tage lang.

[+)] Die Substanz wurde mir von der Firma Chemie Grünenthal dankenswerterweise zur Verfügung gestellt.

Die Tiere erhielten reichlich Glukose, um hypoglykämische Schocks zu vermeiden.

Synthalin wurde in folgenden Dosen subkutan injiziert:

Gruppe S I	20 mg/kg; Tötung drei Stunden p.i.
Gruppe S II	10 mg/kg; Tötung zwölf Stunden p.i.
Gruppe S III	10 mg/kg; Tötung 24 Stunden p.i.
Gruppe S IV	je 10 mg/kg an zwei aufeinanderfolgenden Tagen; Tötung 48 Stunden nach Versuchsbeginn
Gruppe S V	je 10 mg/kg - 7,5 mg/kg - 5 mg/kg an drei aufeinanderfolgenden Tagen; Tötung 72 Stunden nach Versuchsbeginn.

IPTD wurde in Propylenglykoll unter Erwärmen gelöst und in Dosen bis zu 1 g/kg intraperitoneal verabreicht. Die Tötung erfolgte bei Kurzzeitversuchen drei Trage, bei langzeitversuchen 30 Tage nach Applikation der Substanz.

Zur Fermentuntersuchung wurde das Pankreas entnommen, homogenisiert und im Verhältnis 1 : 20 verdünnt. Die Bestimmung der Diastase erfolgte nach Somogyi, die der Lipase nach Scoz, jeweils in der von Henning und Heinkel modifizierten Form.
Trypsin wurde nach der Methode von Anson bestimmt. *) Trypsin liegt im Pankreas in seiner inaktiven Vorstufe, dem Trypsinogen, vor. Da Trypsinogen selbst nicht bestimmt werden kann, muss es aktiviert, d.h. in Trypsin überführt werden. Dies geschieht mit der Enterokinase des Duodenums, dem spezifischen Aktivator des Trypsinogens (Schepovalnikov).
Die Enterokinase gewinnt man auf folgende Weise.
Man entnimmt ein etwa 15 cm langes Stück des Duodenums. Das Darmstück wird aufgeschnitten, abgespült, mit Filterpapier abgetupft, homogenisiert und im Verhältnis 1 : 10 verdünnt.

Um die Beeinflussung der Nierenfuktion durch W 37 und Synthalin zu untersuchen, wurden die täglichen Urinmengen gemessen. Ferner wurde die Ausscheidung des aktiven Kallikreins sowie des Gesamtkallikreins untersucht.

Ausserdem erschien es zweckmässig, neben dem Gehalt des Pankreas an Diastase, Lipase, Kallikreinogen und Trypsinogen auch den Blutspiegel dieser Fermente mit Ausnahme des Trypsinogen zu bestimmen.

Die Kallikreinbestimmungen erfolgten in der von WERLE (44) und FORELL (12) beschriebenen Form.

Histologisch wurden nach W 37 Duodenum, Leber und Niere, nach Synthalin Pankreas, Leber und Niere untersucht.

---

*) Für die Mithilfe bei den Fermentbestimmungen danke ich Frau Winkelmann an dieser Stelle verbindlichst.

E. ERGEBNISSE

Nach W 37 verstarben in den Gruppen W I (75 mg/kg W 37 s.c. drei Trage lang) und W III (200 mg/kg W 37 p.o. drei Tage lang) einzelne Tiere spontan. Der Tod trat fast ausnahmslos in den ersten drei Stunden nach Injektion der angegebenen Dosen ein. Vereinzelte Versuche mit höheren Dosen zeigten, dass nach subkutaner Injektion von W 37 bis zu 100 mg/kg sich der Zustand der Tiere durch Glukosegaben bisweilen bessern liess. Bei Dosen von über 100 mg/kg kam es trotz Glukosezufuhr stets innerhalb von eineinhalb Stunden p.i. unter starken Krämpfen zum Spontantod.

Das Gewicht der Tiere sank während des Versuches in den Gruppen W I und W III um durchschnittlich 7 % des Ausgangsgewichtes ab. In Gruppe W II (50 mg/kg W 37 s.c. zwei Wochen lang) nahm das Gewicht auffallenderweise um 12 % zu. In Gruppe W IV (140 mg/kg W 37 p.o. zehn Tage lang) nahm das Gewicht wiederum um 10 % ab.

Bei den Tieren der Gruppe W III kam es vom zweiten Versuchstag an zu starken Diarrhoen, bei den Tieren der Gruppe W IV vom dritten Versuchstag an. In den anderen beiden Gruppen wurden keine Diarrhoen beobachtet.

Der Gehalt des Pankreas an Trypsinogen und Kallikreinogen war nach W 37 in den Gruppen W I und W III normal. Die Diastase- und Lipasewerte waren ganz gering abgefallen (siehe Abb. 1 und 2). In den Gruppen W II und W IV waren alle Fermente vermindert (siehe Abb. 1 und 2). Vorzeitig aktiviertes Trypsin wurde bei keinem Tier gefunden.

Im Blut konnte keine Veränderung des Diastase-, Lipase- und Kallikreinogenspiegels festgestellt werden (Abb. 4). Die Blutzuckerwerte -die Bestimmungen wurden lediglich in Gruppe W III durchgeführt- waren fünf Stunden nach Applikation der Substanz herabgesetzt (niedrigster Wert 66 mg%).

Es hatte sich im Verlauf der Versuche gezeigt, dass Enterokinase, die von mit W 37 behandelten Tieren gewonnen wurde, weniger Trypsinogen aus einem Pankreashomogenat zu aktivieren vermag als die Enterokinase von Kontrolltieren. Deshalb wurde die Enterokinaseaktivität der mit W 37 behandelten Tiere eigens untersucht (Abb. 5).

Im Zusammenhang mit der Bestimmung der Enterokinaseaktivität erschien es notwendig, den Einfluss von W 37 auf die Trypsinogenaktivierung durch Enterokinase in vitro zu untersuchen. Setzt man in einem Fall einer bestimmten Menge Homogenat 0,2 ml H_2O und Enterokinase eines Normaltieres und in einem anderen Fall der gleichen Menge Homogenat 0,2 ml H_2O, das 4 mg W 37 enthält, und dann erst Enterokinase hinzu, so zeigt sich, dass der Ansatz, dem W 37 beigegeben wurde, am Ende der in beiden Fällen gleichen Einwirkungszeit mehr Trypsin enthält als der andere. W 37 erhöht also die Trypsinogenaktivierung durch die En-

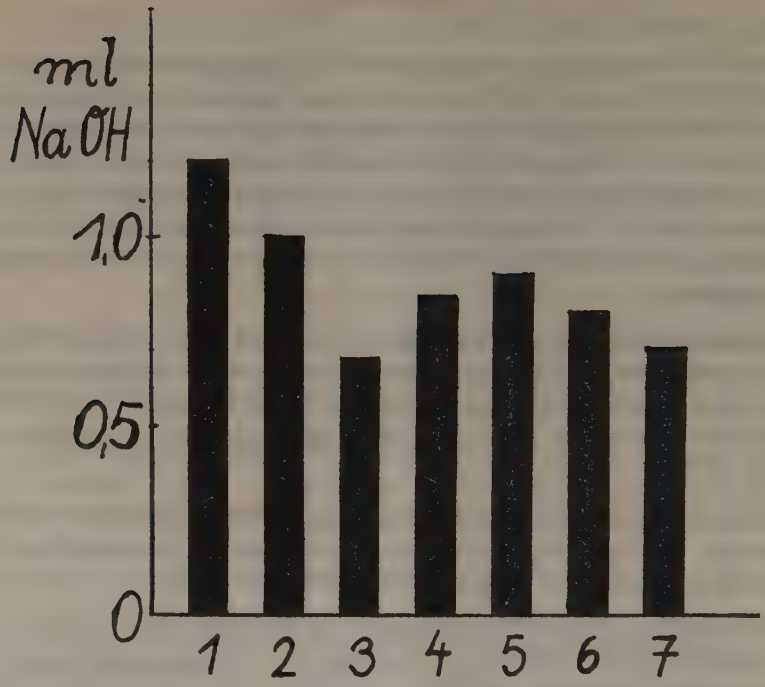

ABBILDUNG 1

Lipasegehalt der Pankreashomogenate

1. Normaltiere
2. Gruppe W I und W III
3. Gruppe W II
4. Gruppe W IV
   (Dosen siehe vorangegangenen Text)
5. Gruppe S III
   1 x 10 mg/kg Synthalin s.c.
6. Gruppe S IV
   10 mg/kg Synthalin s.c. zwei Tage lang
7. Gruppe S V
   je 10-7,5-5 mg/kg Synthalin s.c. an drei aufeinanderfolgenden Tagen

Eine Säule stellt jeweils den Durchschnittswert von zehn Tieren dar.

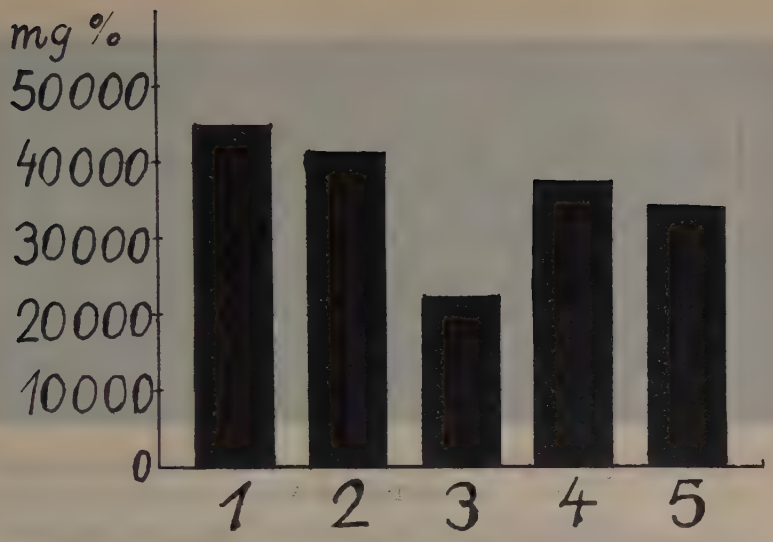

ABBILDUNG 2

Diastasegehalt der Pankreashomogenate

1. Normaltiere
2. Gruppe W I und W III
3. Gruppe W II und W IV
4. Gruppe S III
5. Gruppe S IV und S V
   (Dosen der Gruppen S III-V siehe Abb. 1)

Eine Säule stellt jeweils den Durchschnittswert von zehn Tieren dar.

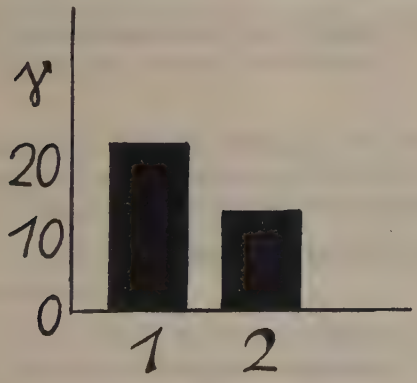

ABBILDUNG 3

Trypsinogengehalt
der Pankreashomogenate

1. Normaltiere
2. Gruppe W II und W IV

Der Trpsinogengehalt der Gruppen W I und W III sowie der Gruppen S III - S V entspricht dem der Normaltiere.

Eine Säule stellt den Durchschnittswert von zehn Tieren dar.

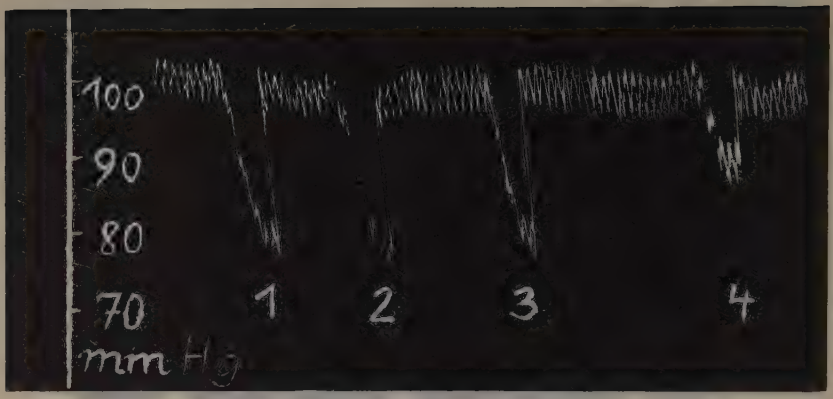

ABBILDUNG 4

Kallikreinogenspiegel im Blut einer mit W 37 behandelten Ratte
(75 mg/kg W 37 s.c. 2 Tage)

Ratte Nr.20, Testhund männlich, 20 kg; Carotisblutdruck
1. 0,4 ml Ansatz (Blut vor W 37-Injektion)
2. 0,4 ml Ansatz (Blut 24 Stunden nach der ersten Injektion)
3. 0,4 ml Ansatz (Blut 24 Stunden nach der zweiten Injektion)
4. 0,4 ml Standard (= 0,4 ml Harnkallikrein)

Ansatz: 0,4 ml Citratplasma 0,4 mg Trypsin (0,04 ml);
Inkubationszeit 10 Minuten

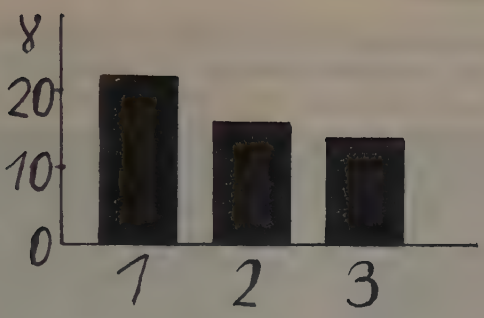

ABBILDUNG 5

Enterokinaseaktivität des Duodenums

Die Säulen stellen die durch die Enterokinase aus dem Pankreashomogenat einer Kontrollratte aktivierten Trypsinmengen dar.
Eine Säule bezeichnet den Durchschnittswert von vier Ansätzen.

Ansatz: Pankreashomogenat
(stets von einem Kontrolltier)
+ 0,3 ml Enterokinase von Kontrolltieren bzw. von mit W 37 und Synthalin behandelten Tieren.

Die Enterokinase der verschiedenen Ansätze wurde jeweils von verschiedenen Tieren gewonnen.

1. Homogenat + Enterokinase von Normaltieren
2. Homogenat + Enterokinase, gewonnen von den Tieren der Gruppe W II (50 mg/kg W 37 s.c. zwei Wochen lang)
3. Homogenat + Enterokinase, gewonnen von den Tieren der Gruppe S V (10-7,5-5 mg/kg Synthalin s.c. an drei aufeinanderfolgenden Tagen)

Die Enterokinaseaktivität aller übrigen Gruppen (W I, W III, W IV, S I, S II, S III, S IV) entspricht der von Kontrolltieren.

terokinase in geringem Masse; es setzt sie in keinem Fall herab, was für die Bestimmung der Enterokinaseaktivität der mit W 37 behandelten Tiere von Bedeutung ist. Auch Synthalin erhöht die Trypsinogenaktivierung durch die Enterokinase.

Im Duodenum konnten histologisch keine krankhaften Veränderungen festgestellt werden.

Die Leber bietet noch folgendes histologisches Bild: Grosse Leberparenchymzellen mit deutlichen Zellgrenzen, die dadurch besonders hervortreten, dass

das Protoplasma auffallend hell und eiweissarm erscheint. Schädigungen an den Kernen sind nicht zu finden.

Die Urinmengen stiegen in allen Gruppen gering gegenüber den Ausgangswerten an. Einzelne Tiere, besonders in Gruppe W II, zeigten eine ausgesprochene Polyurie mit Werten bis zu 35 ml/die (durchschnittlicher Normalwert 12 ml/die). Bei einem Tier der Gruppe W I fand sich eine Harnsperre mit gelblich-trüber Schwellung beider Nieren.

In allen Fällen sank mit zunehmender Versuchsdauer die pro Tag im Urin ausgeschiedene Menge aktiven Kallikreins ab. Stets war nach Zusatz von Trypsin zum Urin der Kallikreingehalt zu steigern. In den meisten Fällen enthielt der Urin, umgerechnet auf die Tagesmenge, nach Trypsinzusatz so viel aktives Kallikrein wie vor Versuchsbeginn. Vereinzelt war der Kallikreingehalt trotz Trypsinzugabe vermindert, besonders dann, wenn die im Urin ausgeschiedene Menge aktiven Kallikreins schon vor Trypsinzusatz enorm vermindert war (Abb. 6).

Die Histologie der Niere ist sehr unterschiedlich. In einigen Präparaten sieht man nur eine amorphe, basophile, wolkig-krümelige Masse in den Tubuluslichtungen. In anderen Fällen beobachtet man die Masse schon in den lichtungsnächsten Abschnitten der Tubulusepithelien; sie geht unmittelbar in die gleichartige, in den Tubuluslichtungen liegende Substanz über. Die Kapselräume der Glomerula sind stets leer. Ebenso sind die Lichtungen der Markkanälchen fast durchwegs frei. Möglicherweise handelt es sich bei den stärkeren Veränderungen um eine ganz leichte Schädigung des Tubulusepithels, jedoch nur von vorübergehender Natur. Eine echte, irreversible Schädigung der Tubulusepithelien ist an diesen selbst nicht nachzuweisen.

Nach Synthalin zeigten sich die von Junkmann sowie von Hesse und Taubmann beschriebenen Symptome: zunehmende Apathie, Kollaps und Lähmung der hinteren Extremitäten.

In allen Gruppen, mit zunehmender Versuchsdauer entsprechend häufiger, verstarben einzelne Tiere spontan. Vor dem Spontantod, der auch noch 24 Stunden nach der Injektion erfolgte, waren die Tiere fast reaktionslos und atmeten sehr langsam und flach.

Das Gewicht der Tiere sank nach Synthalin bei den Gruppen S III und S IV um 6 %, bei Gruppe S V um 10 % des Ausgangsgewichtes ab.

Das Pankreas wies makroskopisch keine Veränderungen auf. Der Gehalt an Trypsinogen und Kallikreinogen im Pankreas war normal. Aktives Trypsin wurde nicht gefunden. Die Lipase und die Diastase sanken mit zunehmender Versuchsdauer und Gesamtdosis ab (Abb. 1 und 2).
Das Absinken der Pankreasfermente ist nicht auf die Apathie und Somnolenz der Tiere zurückzuführen, da stark somnolente Tiere noch normale Werte aufwiesen.

ABBILDUNG 6

Kallikreingehalt im Harn einer mit W 37 behandelten Ratte
(75 mg/kg W 37 s.c. drei Tage lang)

1. 0,5 ml Standard (= 0,5 ml Harnkallikrein)
2. 0,90 ml dialysierter Harn vor Versuchsbeginn;
   Gesamtmenge = 18 ml
3. 0,90 ml dialysierter Harn nach der 1. Injektion von W 37;
   Gesamtmenge = 18 ml
4. 0,65 ml dialysierter Harn nach der 2. Injektion von W 37;
   Gesamtmenge = 13 ml
5. wie 1.
6. 0,67 ml dialysierter Harn nach der 3. Injektion von W 37;
   Gesamtmenge = 13,5 ml
7. wie 1. und 5.
8. Ansatz wie 3. + 0,9 mg Trypsin
9. Ansatz wie 4. + 0,65 mg Trypsin
10. Ansatz wie 6. + 0,67 mg Trypsin

Ansatz 8., 9. und 10.:
1,0 ml dialysierter Harn und 1 mg Trypsin

Inkubationszeit 10 Minuten

Unter Gesamtmenge ist die Menge zu verstehen, die man durch Dialysieren des 24-Stunden-Urins erhält.

Im Blut wurde der Diastasespiegel durch Synthalin stark erhöht. Der Gipfel bei 24 Stunden (Abb. 7) kommt dadurch zustande, dass einzelne Tiere, die in den ersten 24 Stunden nach der 1. Injektion mit einem besonders hohen Anstieg reagierten (bis zu 4000 mg%), innerhalb von weiteren 24 Stunden meist spontan starben. Auch bei z.T. stark abgesunkenem Diastasegehalt des Pankreas war der Diastasespiegel im Blut kurz vor der Tötung erhöht. Der Kallikreinogen- und Lipasespiegel im Blut war -auch wenn gleichzeitig die Diastase enorm erhöht war- normal (siehe Abb. 8).

Tiere mit Pankreasatrophie nach Pankreasgangunterbindung (von Dr. DOBOVICNIK dankenswerterweise durchgeführt) zeigten nach Synthalin keinen Diastaseanstieg. Der Blutzucker wurde durch Synthalin nicht verändert. Es fiel lediglich auch, dass stark somnolente Tiere noch normale Werte, mitunter sogar leicht erhöhte Werte bis zu 130 mg% aufwiesen.

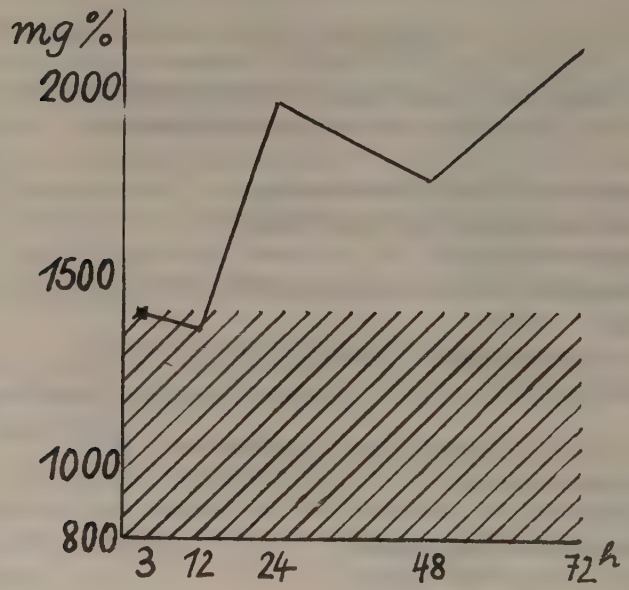

ABBILDUNG 7

Diastasespiegel im Blut von Synthalin-behandelten Ratten.

Das schraffierte Feld umfasst den Normalbereich.

Das Blut wurde von den Tieren der Gruppe S V (10-7,5-5 mg/kg Synthalin drei Tage lang) entnommen und zwar 3, 12, 24, 48 und 72 Stunden nach Versuchsbeginn, d.h. nach der 1. Injektion.

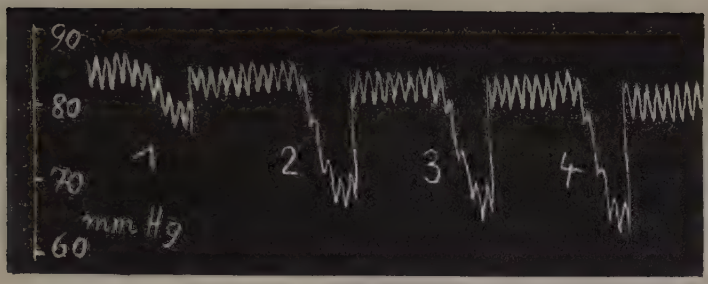

ABBILDUNG 8

Kallikreinogenspiegel im Blut einer mit Synthalin behandelten Ratte
(10 mg/kg Synthalin zwei Tage lang)

Ratte Nr. 977; Testhund männlich, 18 kg; Carotisblutdruck
1. 0,2 Standard (= 0,2 ml Harnkallikrein)
2. 0,2 ml Ansatz (Blut vor Versuchsbeginn)
3. 0,2 ml Ansatz (Blut 24 Stunden nach der 1. Injektion)
4. 0,2 ml Ansatz (Blut 24 Stunden nach der 2. Injektion)

Ansatz: 0,2 ml Citratplasma 0,2 mg Trypsin (0,02 ml);
Inkubationszeit 10 Minuten

Histologisch fanden sich im Pankreas keine Zeichen einer Entzündung des Interstitiums.
In den Aussenbezirken der Langerhans'schen Inseln sieht man eine etwas dichtere Lagerung der Kerne als Zeichen eines leichten Protoplasmaschwundes, besonders deutlich an dichteren Schnittstellen. In dünneren Schnittstellen kommt diese Zellverdichtung schon nicht mehr zum Ausdruck. Ganz selten findet man einen pyknotischen Kern in dieser A-Zell-reichen Zone. Eine stärkere Zellschädigung bis zu voll ausgeprägten Pyknosen oder bis zur Karyolyse ist nirgends zu sehen. Der Befund ist in allen Inseln gleich. Es finden sich also keine Zeichen einer ausgesprochenen Zellschädigung. Als Ursache dieser Veränderung ist wahrscheinlich eine stärkere Sekretabgabe anzusehen, die noch im Bereich des Physiologischen liegt.

Die Enterokinaseaktivität des Duodenums ist nach Synthalin sehr unterschiedlich. Sie ist bei den Tieren der Gruppe S I erhöht, d.h. die von einem solchen Tier gewonnene Enterokinase führt aus einem Homogenat mehr Trypsinogen in Trypsin über als die eines Normaltieres. Bei den Tieren der Gruppe S II, S III und S IV ist die Enterokinaseaktivität normal. In Gruppe S V ist die Enterokinaseaktivität dagegen gegenüber der Enterokinase von Normaltieren erniedrigt (Abb. 5).

In der Leber sieht man nach Synthalin im histologischen Präparat zahlreiche pyknotische Parenchymzellkerne. Eine völlige Nekrose dieser Zellen scheint nicht eingetreten zu sein, da auch in den Bezirken mit dichter liegenden Pyknosen noch keine entzündliche Reaktion eingetreten ist. Ein gruppenförmiger Untergang und eine vakuolige Verfettung sind nicht zu finden. Diese Form der Zellschädigung könnte noch reversibel sein.

Nach Synthalin sanken die täglichen Urinmengen beträchtlich ab. Nach der 3. Injektion (Gruppe S V) betrug bei einzelnen Tieren die Tagesurinmenge nur noch ungefähr 3 ml. Der Kallikreingehalt im Urin sank mit zunehmender Versuchsdauer ebenfalls ab. Auch nach Zusatz von Trypsin zum Urin waren die Kallikreinwerte geringer als vor Versuchsbeginn.

Diesen Befunden ist keine grosse Bedeutung beizumessen, da die Urinmengen im einzelnen zu klein waren, um signifikante Ergebnisse zu erbringen.

Histologisch konnte an der Niere ein sehr massiver Befund erhoben werden. Es fanden sich Eiweisszylinder in fast allen Tubuli, in den Tubuli contorti eine Schwellung des Epithels mit unscharfen Zellgrenzen, manchmal eine stärkere Schädigung mit regelrechtem Epitheluntergang, kernlosem Epithel und nicht mehr erkennbaren Zellgrenzen.

IPTD in der angegebenen Dosis führte zu keiner auffälligen Veränderung im äusseren Verhalten der Tiere. Die Pankreasfermente wurden durch diese Substanz nicht vermindert. Der Blutzucker stieg initial entsprechend den Befunden von vonHOLT (25) an (höchster Wert vier Stunden p.i. 321 mg%). Eine Senkung des Blutzuckers im Anschluss an die initiale Hyperglykämie konnte entgegen den Beobachtungen von vonHOLT nicht festgestellt werden. Die Blutdiastase war gering erhöht. Wegen der kaum auffälligen Befunde wurden diese Versuche nicht weiter ausgedehnt.

F. ERÖRTERUNG DER BEFUNDE

In der Literatur sind bisher weder beim Menschen noch im Tierexperiment Veränderungen der Pankreasfermente nach W 37 beschrieben. Die hier durchgeführten Untersuchungen zeigen eine z.T. sehr deutliche Verminderung der Pankreasfermente nach W 37. Sie ist in den Gruppen W I und W III nur geringgradig ausgeprägt. Erst nach 10- bzw. 14-tägiger Dauer (Gruppe W II und W IV) kommt es zu einem deutlichen Abfall sämtlicher Fermente.

Besondere Beachtung verdient bei einer Verminderung der Pankreasfermente die Leber. Durch Pankreasfermentuntersuchungen beim Menschen mit Leberschäden und Gallengangsdyskynesien ist bekannt, dass diese Krankheiten mit einer Verminderung der Pankreasfermente einhergehen bzw. ursächlich dafür verantwortlich

sein können (FORELL). Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten histologischen Untersuchungen weisen keine Leberschädigungen auf. Ein Leberschaden als Ursache des festgestellten Absinkens der Pankreasfermente scheidet damit aus. GEORGII, MEHNERT und SANGHA (3, 35) haben bei langfristigen Versuchen mit W 37 (12-fache therapeutische Dosis über 140 Tage) geringe, bei hochdosierten, kurzfristigen Belastungen mit W 37 (insgesamt 120 mg in vier Tagen) deutliche Leberparenchymzellveränderungen festgestellt. Es wäre nun interessant zu untersuchten, ob derartige Leberveränderungen zu einem besonders starken Abfall der Pankreasfermente führen. Diese Untersuchungen konnten in der vorliegenden Arbeit insbesondere wegen der beschränkten Möglichkeit, histologische Präparate anzufertigen, nicht durchgeführt werden.

Der Fermentabfall ist auch nicht durch eine verminderte Fresslust der Tiere zu erklären. Tiere mit stark abgesunkenen Fermentwerten nahmen während der 14-tägigen Versuchsdauer um 12 % ihres Ausgangsgewichtes zu (Gruppe W II). Eine Gewichtszunahme durch Wasserretention ist ausgeschlossen, da bei den Tieren z.T. eine ausgesprochene Polyurie zu beobachten war. Nach GROSSMAN, GREENGARD und IVY (23) entspricht der im Pankreas vorgefundene Fermentgehalt der Fermentproduktion. Wenn also die Fermentwerte auf die Hälfte abgesunken sind, dann ist die Fermentproduktion d.h. die exkretorische Funktion des Pankreas auf die Hälfte eingeschränkt. Diese starke Funktionseinschränkung nach W 37 stellt insofern eine Besonderheit dar, als gleichzeitig keine histologischen Veränderungen gefunden werden. W 37 führt auch zu keiner Pankreatitis, als deren Folge es zu einem Fermentabfall kommen könnte.

Bisher wurde im Zusammenhang mit A-Zell-Schädigungen lediglich nach $CoCl_2$ (Cobaltchlorid) histologische Veränderungen (bräunliche Verfärbung, hyaline Tropfen, optisch leere Vakuolen und sudanophile Tropfen in den Acinuszellen) beschrieben. Diese Schädigung ist dadurch erklärt, dass das Pankreas für $CoCl_2$ eine Ausscheidungsfunktion ausübt (Schwiegk). W 37 wird jedoch nicht durch das Pankreas ausgeschieden und demnach ist eine Schädigung durch die Ausscheidung der Substanz nicht zu erwarten. Da keine histologischen Veränderungen und auch sonst keine direkten Ursachen für den Fermentabfall gefunden werden können, liegt der Gedanke nahe, dass W 37 über eine zentrale Beeinflussung zu dem Fermentabfall führt. Von elektronenmikroskopischen Untersuchungen her ist bekannt, dass die Fermente im endoplasmatischen Retikulum synthetisiert und im Golgi-Apparat gespeichert werden. Im elektronenoptischen Bild sieht man, dass kurze Zeit nach Nahrungsaufnahme die Zysternen des endoplasmatischen Retikulums der Acinuszellen des Pankreas mit Granula (= Proenzymgranula) angefüllt sind. Der Fermentabfall nach W 37 könnte nun durch eine Beeinflussung des adaequaten Reizes zur Fermentbildung durch die Nahrungsaufnahme zustande kommen. Auf der anderen Seite kann nicht ausgeschlossen werden, dass der Fermentabfall durch eine Alteration des endoplasmatischen Retikulums verursacht ist, die im Lichtmikroskop noch nicht sichtbar ist.

An der Schleimhaut des Duodenums konnten histologisch nach W 37 keine krankhaften Veränderungen festgestellt werden.
Das verwundert insofern, als SCHRICKER (3) schon bei wesentlich niedrigeren Dosen beim Menschen (über 300 mg/die) bereits nach sieben Tagen histologische Veränderungen (subepitheliales Ödem) an der Magenschleimhaut feststellte. Auch wenn man den grossen Unterschied zwischen Mensch und Tier berücksichtigt, sind die starken Differenzen hinsichtlich der histologischen Befunde nicht ganz verständlich.

Die Aktivität der aus dem Duodenum gewonnenen Enterokinase ist bei Gruppe W II (50 mg/kg W 37 s.c. 14 Tage lang) abgesunken; bei den übrigen Gruppen entspricht sie der Norm. Es sind bisher auch bei anderen Substanzen keine Veränderungen der Enterokinaseaktivität beschrieben worden. Deshalb fehlen alle Vergleichsmöglichkeiten; die erhobenen Befunde können nur mit grossen Einschränkungen diskutiert werden.
Die eigentliche Ursache der Aktivitätsminderung kann nicht sicher geklärt werden. Der Abfall der Aktivität ist praktisch nur nach subkutaner Injektion festzustellen, wird also nicht durch die unmittlbar lokale Berührung der Substanz mit der Mucosa herbeigeführt. Es ist nicht anzunehmen, dass W 37 durch das Duodenum ausgeschieden wird und über Mucosaalterationen oder nur einen unmittelbaren Einfluss auf die Enterokinase im Zellinneren zur Herabsetzung der Enterokinaseaktivität führt und zwar aus folgenden Gründen:

1. Untersuchungen der Firma Chemie Grünenthal ergaben, dass W 37 im Urin nachgewiesen werden kann und demnach durch die Niere ausgeschieden wird. In diesem Sinn sprechen auch die in den vorliegenden Untersuchungen beobachteten Nierenschäden nach W 37.
2. Es wurden nach W 37 keine histologischen Veränderungen der Duodenalschleimhaut beobachtet.
3. W 37 führt in vitro eher zu einer Steigerung der Trypsinogenaktivierung als zu einer Minderung.

Dass in Gruppe W IV keine Aktivitätsminderung festgestellt wurde, mag daran liegen, dass eine unter Umständen tatsächlich vorhandene Verminderung durch im Duodenum vorhandenes W 37 überlagert bzw. aufgehoben wird. Möglicherweise kommt der Aktivitätsabfall der Enterokinase über zentrale Einflüsse im Sinn einer steten Reizung des Duodenums zustande. Analog zu den nervalen Sekretionsreizen der Acinuszellen des Pankreas könnten durch W 37 an den die Enterokinase bildenden Zellen ähnliche Reize wirksam werden und zu einem Abfall der Enterokinaseaktivität führen, ohne histologische Veränderungen zu erzeugen.

Signifikant sind nach W 37 die Schädigungen im proximalen Tubulusbereich der Nieren. In leichteren Fällen sieht man nur eine amorphe, basophile Masse in den Tubuluslichtungen der Hauptstücke. Bei stärkeren Veränderungen beobachtet man diese basophile Substanz schon in den lichtungsnächsten Abschnitten der Tu-

bulusepithelien. Sie geht unmittelbar in die in den Lichtungen liegende Masse über. Die wolkig-krümelige Masse ist proximal von den Stellen, wo man sie schon intrazellulär feststellen kann, nicht zu sehen. In den distalen Tubuluslichtungen verliert sie sich sehr rasch. Dieser histologische Befund weist darauf hin, dass die Substanz möglicherweise durch die Hauptstücke der Tubuli sezerniert wird. Für diese Annahme spricht auch die verminderte Kallikreinogenaktivierung nach W 37. Man könnte sich vorstellen, dass die Tubuli contorti I dadurch, dass sie W 37 sezernieren, geschädigt werden und so die Fähigkeit verlieren, das ganze die Nieren passierende Kallikreinogen zu aktivieren. Nach Zusatz von Trypsin zum Urin ist in den meisten Fällen, vor allem in den ersten Versuchstagen, der Kallikreingehalt des Urins, umgerechnet auf die Tagesmenge, gegenüber den Ausgangswerten nicht vermindert. In einigen Fällen ist jedoch trotz Trypsinzugabe der Gesamtkallikreingehalt des Urins herabgesetzt. Diese Beobachtung kann insbesondere dann gemacht werden, wenn schon die Ausscheidung von aktivem Kallikrein im Urin stark herabgesetzt ist. Diese Tatsache -herabgesetzter Kallikreingehalt des Urins trotz Trypsinzugabe und damit verminderte Ausscheidung von Kallikrein im Urin- ist möglicherweise durch eine Verminderung des Glomerulumfiltrates bedingt, wie sie CREUTZFELDT nach W 37 annimmt (3). CREUTZFELDT stellte nämlich fest, dass die Lactacidurie an dem Tag am geringsten ist, an dem die Milchsäurekonzentration im Blut ihr Maximum erreicht hat. Dass entsprechend des Milchsäureanstieges im Blut das Kallikreinogen nicht ansteigt, spricht nicht gegen die Annahme, der Abfall des Gesamtkallikreins im Urin sei durch eine Verminderung des renalen "load" hervorgerufen. Bei der Milchsäure handelt es sich um einen Stoffwechselmetaboliten, der von der Nahrungsaufnahme und der Stoffwechselsituation abhängig ist und beim Kallikrein um eine physiologische Substanz. Beide müssen also nicht durchwegs den gleichen Regulierungen zwischen Blutgehalt und Ausscheidung im Urin unterliegen.

Es muss besonders betont werden, dass eine Verminderung der Kallikreinogenaktivierung schon zu beobachten ist, ehe histologisch manifeste Schäden an den Nieren auftreten. Lazarus und Mitarb. haben ausdrücklich betont, dass sie histochemische Veränderungen erst nach dem Auftreten von histologischen Schäden beobachten konnten (29).

Tiere, bei denen es zu einer Polyurie kam, zeigten keine von den anderen Tieren abweichenden histologischen Veränderungen der Nieren. Auch die Kallikreinogenaktivierung durch die Niere war ebenso wie bei den übrigen Tieren herabgesetzt. Gezielte Untersuchungen, um die Ursache der Polyurie zu klären, wurden nicht durchgeführt.

Unterschiedlich ist in der Literatur die Meinung darüber, wodurch es nach hohen Dosen von W 37 zum Spontantod der Tiere kommt. Da sich nach unseren Untersuchungen der Zustand der Tiere nach subkutaner Injektion von mehr als 100 mg/kg W 37 durch Glukosegaben kaum bessern liess, sind neben Blutzuckersenkung auch noch andere Ursachen -möglicherweise eine Wirkung auf das Zentral-

nervensystem- für den Tod der Tiere verantwortlich, wie dies CREUTZFELDT bereits angenommen hat (3).

Synthalin unterscheidet sich teilweise hinsichtlich der Organtoxizität von W 37. Nach Synthalin in den angegebenen Dosen wurden im Gegensatz zu W 37 in der Leber zahlreiche pyknotische Parenchymzellkerne beobachtet, ohne dass eine völlige Nekrose eingetreten ist. Staub und andere hatten dagegen bereits in den zwanziger Jahren nach hohen Dosen von Synthalin Leberparenchymnekrosen bei verschiedenen Species festgestellt.
Besonders auffallend war nach Synthalin die Erhöhung der Blutdiastase. Dem Diastaseanstieg liegt keine Pankreatitis zugrunde. Das histologische Bild weist keine Zeichen einer Entzündung auf. In keinem Fall fand sich aktives Trypsin im Pankreashomogenat; es fehlte also die für eine Pankreatitis charakteristische Trypsis (1). Die Ursache der Diastaseerhöhung dürfte jedoch im Pankreas liegen, denn Tiere mit Pankreasatrophie zeigen keine pathologischen Diastasewerte. Eine verminderte Diastaseausscheidung im Urin als Ursache des Diastaseanstieges im Blut scheidet schon deswegen aus, weil 24 Stunden nach der ersten Injektion von Synthalin auffallend hohe Diastasewerte (bis zu 4000 mg%) beobachtet wurden, zu diesem Zeitpunkt die Nierenschädigungen -wie die Tagesurinmengen und die Kallikreinogenaktivierung zeigen- nur geringgradig ausgeprägt sind. Erst im weiteren Verlauf sinken die Tagesurinmengen beträchtlich ab. Zu dieser Oligurie dürfte es dadurch kommen, dass in fast allen Tubuli massive Eiweisszylinder zu finden sind.

Die Differenz zwischen der Dosis, die bei einmaliger Verabreichung gerade noch toleriert wird und der Dosis, die man über mehrere Tage verabreichen kann, ist bei W 37 geringer als bei Synthalin. Dieser Befund beruht darauf, dass W 37 schneller ausgeschieden wird als Synthalin. CREUTZFELDT hat durch Infusion kleiner Dosen von DBI (Phenylaethylbiguanid) in bestimmten Zeitabständen exakt nachgewiesen, dass die Biguanide relativ rasch ausgeschieden werden (3).

Der Abfall der Pankreasfermente wie die Aktivitätsminderung der Enterokinase im Tierexperiment können keineswegs allein die beim Menschen auftretenden gastro-intestinalen Beschwerden nach W 37 erklären. Die Funktionseinschränkung des Pankreas und die histochemischen Veränderungen im Duodenum kommen im Tierexperiment nur nach sehr hohen Dosen (50-fache therapeutische Dosis) zustande und dürften deshalb beim Menschen in diesem Umfang nicht zu beobachten sein. Die Meinung vieler Autoren geht nun dahin, für die gastrointestinalen Beschwerden einen zentralen Auslösungsmechanismus verantwortlich zu machen. Da für den Abfall der Pankreasfermente und die Aktivitätsminderung der Enterokinase keine direkten Ursachen gefunden werden konnten, kommen auch hierfür möglicherweise zentrale Einflüsse in Frage. Zweifellos führen darüber hinaus im Tierexperiment die hohen p.o. applizierten Dosen zu einer direkten lokalen Beeinträchtigung des Magen-Darm-Traktes. Während in Gruppe W II (50 mg/kg W 37 s.c. 14 Tage lang) keine Diarrhoen beobachtet wurden, traten sie bei den hinsicht-

lich Stoffwechselwirkung und Organtoxizität vergleichsweise gleich hohen Dosen der Gruppe W IV (140 mg/kg W 37 p.o. 10 Tage lang) vom dritten Versuchstag an auf. Desgleichen zeigte sich in Gruppe W II eine Gewichtszunahme um 12 %, bei Gruppe W IV dagegen eine Gewichtsabnahme um 10 %.

Es erwies sich als vorteilhaft, gleichzeitig mehrere Organe der Tiere einer bestimmten Versuchsreihe zu untersuchen. In diesem Fall lassen sich die Organveränderungen am besten miteinander vergleichen. Nach W 37 steht der Fermentabfall des Pankreas im Vordergrund. Weniger ausgeprägt sind die Läsionen der Niere; gering ist der Aktivitätsabfall der Enterokinase des Duodenums. An der Leber sind keine histologischen Veränderungen zu beobachten. Die Bedeutung dieser unterschiedlichen Befunde im Tierexperiment liegt nun darin, aufzuzeigen, welchen Organen in der Therapie, vor allem bei einer länger dauernden Therapie, besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden muss.

Ein Vergleich zwischen W 37 und Synthalin hinsichtlich Stoffwechselwirkung und Organtoxizität ergibt folgendes.
Es wurde bei beiden Substanzen eine Dosis gewählt, die die Tiere gerade noch tolerierten, d.h. in allen Versuchsreihen mit Ausnahme der 10- bzw. 14-tägigen Versuchsgruppen mit W 37 starben einzelne Tiere spontan. Der niedrigste Blutzukkerwert nach W 37 vier Stunden nach peroraler Applikation (200 mg/kg) betrug 66 mg%; der niedrigste Wert nach Synthalin drei Stunden nach s.c. Injektion (10 mg/kg) betrug 88 mg%.

Während bei den gewählten Dosen nach Synthalin praktisch kein Stoffwechseleffekt zu beobachten war, ist die Blutzuckerwirkung nach W 37 doch deutlich. Trotz fehlender Stoffwechselwirkung sind nach Synthalin die Organschädigungen stärker ausgeprägt als nach W 37. Im einzelnen ergeben sich folgende Unterschiede:
W 37 hat keinen Einfluss auf die Blutdiastase und führt zu keinen Leberveränderungen. Auch die Nierenschäden nach W 37 sind weitaus geringer als nach Synthalin. Insbesondere wird nach W 37 keine Oligurie beobachtet. Lediglich die Wirkung auf die Pankreasfermente und auf die Enterokinaseaktivität ist bei W 37 wie bei Synthalin nahezu gleich, obwohl die Wirkung nach W 37 später eintritt.

Nach IPTD konnten keine Veränderungen der Pankreasfermente festgestellt werden. Ob das für sämtliche Sulfonylharstoffe gilt, lässt sich besonders nach der begrenzten Zahl der Versuche nicht entscheiden. Auch sonst wurden bisher nach Sulfonylharnstoffen bei Dosen, die zu einer Blutzuckersenkung führen, weder beim Menschen noch im Tierexperiment irgendwelche Auswirkungen auf das Allgemeinbefinden oder bestimmte Organe gefunden.

DREILING und Mitarb. haben nach Glukagoninjektionen einen kurzzeitigen Abfall der Blutdiastase beim Menschen festgestellt (11). Die Diastaseerhöhungen nach Synthalin lassen sich mit diesen Befunden nicht in Zusammenhang bringen, was bei einer Wirkung von Synthalin auf die A-Zellen im Sinn einer Reizung oder

einer Zerstörung der Fall sein müsste. Während Synthalin und W 37 zu prinzipiell gleichen Veränderungen an den A-Zellen führen (Degranulation und Vakuolisation) wird eine Veränderung der Blutdiastase jedoch nur nach Synthalin beobachtet. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung von Nielsen und Mitarb. dass nach Vorbehandlung mit DBI (Phenylaethylbiguanid) die für Glukagon charakteristische, hyperglykämische Wirkung ausbleibt.

Wie die Durchsicht der einschlägigen Literatur ergibt (2, 4, 5, 6, 7 und 26), kennt man bis jetzt noch keine Substanz, die die A-Zellen direkt zerstört. Nach Synthalin, das in Dosen verabreicht wurde, die von den Tieren gerade noch toleriert wurden, konnten bei den durchgeführten histologischen Untersuchungen keine Schädigungen der A-Zellen festgestellt werden.

Feyrter hatte angenommen (1953), dass die A-Zellen neben anderen Funktionen eine Wirkung auf das Acinusgewebe des Pankreas ausüben. CREUTZFELDT hat nach experimentellen Untersuchungen mit $CoCl_2$ die Frage aufgeworfen, ob die A-Zell-Alterationen möglicherweise als Folge der Schädigung des Acinusgewebes anzusehen seien (6). Die vorliegenden Versuchsergebnisse geben keinen Hinweis auf einen Zusammenhang zwischen A-Zellen und Acinusgewebe. IPTD führt zu keinem Fermentabfall, obwohl von anderen Autoren (25) nach dieser Substanz ausgedehnte Veränderungen der A-Zellen beschrieben worden waren. Der zum Teil starken Verminderung der Pankreasfermente hach Synthalin stehen nur im physiologischen Bereich veränderte A-Zellen gegenüber.

Bisher wurde die Höhe des Blutzuckers als ein wichtiges Kriterium für die Funktion der A-Zellen angesehen. Nach neueren Untersuchungen wirkt Glukagon primär auf den Fettstoffwechsel und hat erst sekundär einen Einfluss auf den Blutzucker (37, 38, 46). Demnach lässt die Höhe des Blutzuckers keinen direkten Schluss auf die Funktion der A-Zellen zu, insbesondere kann man aus der Blutzukkerhöhe nicht ersehen, ob eine Substanz eine unmittelbare Wirkung auf die A-Zelle ausübt.

G. SCHLUSS

Da im Tierexperiment der Abfall der Pankreasfermente und die Aktivitätsminderung der Enterokinase erst durch sehr hohe Dosen von W 37 zu erzielen sind, ist es fraglich, ob die Biguanidtherapie beim Menschen zu den gleichen Organveränderungen führt. Die gastro-intestinalen Beschwerden beim Menschen sind deshalb nicht allein durch derartige Veränderungen verursacht. Für die Befunde im Tierexperiment wie für die Beschwerden beim Menschen sind möglicherweise in beiden Fällen auch zentralnervöse Einflüsse durch diese Substanz verantwortlich. Der Fermentabfall des Pankreas und die Nierenschäden nach W 37 sollten jedoch dazu Anlass geben, diesen Organen bei einer länger dauernden Biguanidtherapie erhöhte Aufmerksamkeit zu schenken. Nach IPTD wurde vergleichsweise kein Fermentabfall gefunden.

Die Entwicklung von den Guanidinen zu den Biguniden stellt hinsichtlich der Beziehung zwischen Stoffwechselwirkung und Organtoxizität zweifellos einen grossen Fortschritt dar.

Herrn Prof. Dr. M. M. FORELL danke ich für die Überlassung des Themas sowie für jederzeit gewährten Rat und Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit in seinem Labor.
Herrn Prof. Dr. Dr. E. WERLE bin ich für die Möglichkeit, die Kallikreinbestimmungen in seinem Labor durchführen zu können, zu grossem Dank verpflichtet.
Ferner darf ich Herrn Priv. Doz. Dr. B. STAMPFL für die Anfertigung und Beurteilung der histologischen Präparate danken.

H. LITERATUR

1. BECKER, V.: Gastroenterologia 94, 65-86 (1960)

2. BENCOSME, S.A., S. MARIZ, J. FREI:
Laboratory Investigation 7, 138-145 (1958)

33. BERTRAM, F., G. MICHAEL:
Internat. Biguanid Symposium, Thieme (1960)

4. CREUTZFELDT, W.:
Diabetes 135-145 (1957)

5. CREUTZFELDT, W.:
Diabetes 51-63 (1960)

6. CREUTZFELDT, W., W. SCHMIDT:
Arch. exp. Path. u. Pharm. 222, 487-512 (1954)

7. CREUTZFELDT, W., E. TECKLENBORG:
Arch. exp. Path. u. Pharm. 227, 23-61 (1955)

8. DOBOVICNIK, W., M.M. FORELL:
Zeitschr. klin. Med. 156, 381-388 (1960)

9. DOBOVICNIK, W., M.M. FORELL:
Zeitschr. klin. Med. 156, 478-484 (1961)

10. DOBOVICNIK, W.:
Dissertation II. Med. Klinik München (1960)

11. DREILING, D.A., H.D. JANOWITZ, U.P. HAEMMERLI, D. MARSHALL:
Journal of the Mount Sinai Hospital XXV. 240-243 (1958)

12. FORELL, M.M.:
Schweiz. Med. Wschr. 87, 828 (1957)

13. FORELL, M.M.:
Münch. Med. Wschr. 102, 2490-2492 (1960)

14. FORELL, M.M.:
Dtsch. Med. Wschr. 86, 981-984 (1961)

15. FORELL, M.M.:
Schweiz. Rschr. f. Med. 50, 511-513 (1961)

16. FORELL, M.M., W. DOBOVICNIK:
Zeitschr. klin. Med. 156, 389-395 (1960)

17. FORELL, M.M., W. DOBOVICNIK:
Klin. Wschr. 39, 47-51 (1961)

18. FORELL, M.M., W. DOBOVICNIK, L. GÖLDEL:
Zeitschr.ges.exp.Med. 132, 399-412 (1960)

19. FREY, E.K.: Langenbecks Arch.Klin.Chir. 142, 663 (1925)

20. FREY, E.K., H. KRAUT:
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path. Path.Pharmak. 133, 1 (1928)

21. FREY, E.K., H. KRAUT, E. WERLE:
Kallikrein, Stuttgart: Enke (1950)

22. GEORGII, A., H. MEHNERT:
Beitr.path.Anat.u.allgem.Path. 124, 278-294 (1961)

23. GROSSMAN, M.I., H. GREENGARD and A.C. IVY:
Amer.J.Physiol. 138, 676 (1943)

24. HAMMERL, H., O. PICHLER:
Münch.Med.Wschr. 103, 624 (1961)

25. v.HOLT, C., L. v.HOLT, B. KRÖNER:
Dtsch.Med.Wschr. 80, 648-649 (1955)

26. HULTQUIST, G.T.:
Act.soc.med.Ups. LXIV 255-260 (1959)

27. KLEIN, K.: Münch.Med.Wschr. 103, 626-629 (1961)

28. KRAUT, H., E.K. FREY, E. WERLE:
Z.physiol.Chem. 189, 97 (1930)

29. LAZARUS, S.S., M. BRADSHAW, B.W. VOLK:
Diabetes 9, 118-125 (1960)

30. MANOCCHIO, I.:
Zentralbl.Allgem.Path.u.Path.Anat. 101 (1960)

31. MEHNERT, H.:Dtsch.Med.Wschr. 83, 1273-1279 (1958)

32. MEHNERT, H., W. SEITZ:
Münch.Med.Wschr. 100, 1056-1059 (1958)

33. MEHNERT, H., L.P. KRALL:
Dtsch.Med.Wschr. 85, 574-584 (1960)

34. MEHNERT, H., A. GEORGII:
Verh.d.Dtsch.Ges.f.innere Med. (1959)

35. SANGHA, K.: Dissertation Med.Poliklinik München (1961)

36. STÖTTER, G.:Münch.Med.Wschr. 103, 755-759, 816-820, 848-853 (1961)

37. WEINGES, K.F.:
Klin. Wschr. 39, 293-298 (1961)

38. WEINGES, K.F., H. WÖRNER:
Klin. Wschr. 39, 238-243 (1961)

39. WERLE, E.: Biochem. Z. 273, 291 (1934)

40. WERLE, E.: Biochem. Z. 287, 235 (1936)

41. WERLE, E.: Biochem. Z. 290, 129 (1937)

42. WERLE, E.: Polypeptides which Affect Smooth Muscles and Blood Vessels
Oxford, Pergamon Press (1960)

43. WERLE, E., W. GÖTZE, A. KEPPLER:
Biochem. Z. 289, 217 (1937)

44. WERLE, E., K. URHAHN:
Biochem. Z. 304, 387 (1940)

45. WERLE, E., U. BEREK:
Biochem. Z. 320, 136 (1950)

46. WÖRNER, H., K.F. WEINGES:
Klin. Wschr. 39, 243-246 (1961)

LEBENSLAUF

Am 26. November 1934 wurde ich als Sohn des Landwirts Franz Langer und seiner Ehefrau Maria, geborene Winkler, in Spornhau/Sudetenland geboren. Im September 1940 trat ich in die dortige Volksschule ein. Nach der Vertreibung besuchte ich von 1947 bis 1955 das Humanistische Gymnasium in Eichstätt und anschliessend das Alte Gymnasium in Würzburg. Dort legte ich im Juli 1956 die Reifeprüfung ab. Vom Wintersemester 1956/57 studierte ich an der Universität Würzburg, wo ich im März 1959 das Physikum bestand. Im Sommersemester 1959 setzte ich das Studium an der Universität München fort. Hier legte ich vom 5. März 1962 bis zum 6. Juni 1962 das Staatsexamen ab.